

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**

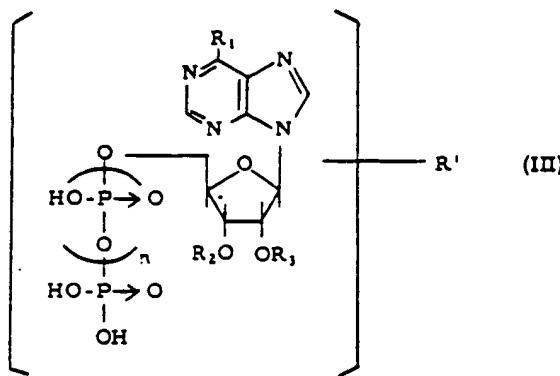
16563 E/09 802
CHUGAI PHARMACEUTICAL KK

CHUS 26.06.80

*J5 7011-999

26.06.80-JP-085923 (21.01.82) C07h-19/20 G01n-33/60
Iodine labelled adenosine phosphate cpds. - useful for
radioimmunoassay of AMP, ADP, ATP etc. in ulcer diagnosis, energy
metabolism determination etc.

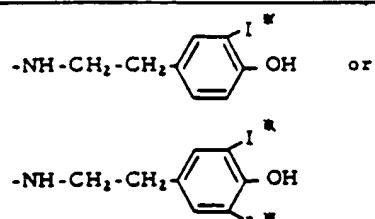
Iodine-contg. adenosine phosphate cpds. of formula (III) and
their salts are new:



B(4-B3, 5-A4) 2

118

(R' is



bonded to 2-, 6- or 8-position of the purine ring (* shows that iodine may be labelled with radioactive isotope);
R₁ is amino when R' bonds to the 2- or 8-position of the
purine ring, or R₁ is the same as R' when R' bonds to the
6-position of the purine ring;
R₂ and R₃ are both H or phosphoric acid gp. or in combina-
tion form ;

n is 0-2).

USES

J57011999+

Adenosine phosphate cpds. are distributed widely in the form of adenosine monophosphate (AMP), adenosine di-phosphate (ADP) or adenosine triphosphate (ATP) in the living body, and are involved in energy metabolism. Determination of concn. in body fluids is often required. Recently diagnosis of ulcer may be carried out by means of ATP, coenzyme A or their derivs. (B-protein assay). (I) are useful as starting materials for radioactive iodine-labelled cpds. for radioimmunoassay of AMP, ADP, ATP etc. and is intermediates for the synthesis of radioactive iodine-labelled coenzyme A cpds. (see J57011996).

PREPARATION

(II) can be prep'd. by reacting the corresp. iodine-free cpds. (II) (described in J57011998) or their salts with (1) iodine/alkali iodide aq. soln., opt. in the presence of alkali iodide labelled with radioactive iodine, or (2) alkali iodide (opt. labelled with radioactive iodine) in the presence of oxidising agent.

EXAMPLE

Mixt. of 8-bromo-adenosine-5'-phosphate ammonium salt (0.6g), 4-hydroxyphenethylamine (1.4g) and water (30 ml) was heated and refluxed with stirring at 140-150°C for 2 hrs. After cooling, insoluble substance was filtered off and the filtrate was adsorbed on DEAE-cellulose

(HCO₃⁻ form, 2 x 50 cm) and eluted with a concn. gradient of 0.01 M NH₄HCO₃ - 0.25 M NH₄HCO₃. Fractions containing end prod. were evapd. Residue was dissolved in water (5 ml). NEt₃ (1 ml) was added. Solvent was evapd. and a small amt. of ethanol was added. Ethanol was evapd. to give colourless powder of 6-(4-hydroxyphenethylamino)-adenosine-5'-phosphate (triethylammonium salt) (IIa) (0.4g). (IIa) (100 mg) was dissolved in 0.25M aq. KHCO₃ (11 ml). Iodine-potassium iodide aq. soln. (KI 100 mg, I₂ 127 mg dissolved in 10% ethanol aq. soln. 10 ml) (3.5 ml) was added dropwise with ice-cooling and stirring. The mixt. was stirred further for 10 minutes. Water (20 ml) was added and the resultant mixt. was adsorbed on DEAE cellulose (HCO₃⁻ form, 1.2 x 15 cm). Adsorbed substance was eluted with a concn. gradient of 0.01-0.5 M NH₄HCO₃. Fractions containing 8-(3-iodo-4-hydroxy-phenethylamino)adenosine-5'-phosphate (monoiodide) and 8-(3,5-diiodo-4-hydroxyphenethylamino)adenosine-5'-phosphate (diiodide) were obtained. The fractions were evapd. and water was added into residue. Operation for distilling off NH₄HCO₃ was repeated. Ethanol was added and ethanol was distilled off. Pale yellow powders of monoiodide (ammonium salt) (30 mg) and diiodide (ammonium salt) (25 mg) were obtained. (8ppW69).

J57011999

⑪ 公開特許公報 (A)

昭57-11999

⑫ Int. Cl.³
C 07 H 19/20
G 01 N 33/60

識別記号

序内整理番号
7252-4C
6422-2G

⑬ 公開 昭和57年(1982)1月21日

発明の数 2
審査請求 未請求

(全 8 頁)

④ ヨードの導入された新規アデノシン磷酸化合物及びその製法

⑤ 特 願 昭55-85923

⑥ 出 願 昭55(1980)6月26日

⑦ 発明者 田中貞夫

東京都豊島区高田3丁目41番8
号中外製薬株式会社総合研究所
内

⑧ 発明者 松永功

東京都豊島区高田3丁目41番8
号中外製薬株式会社総合研究所

⑨ 発明者 蒲池信一

東京都豊島区高田3丁目41番8
号中外製薬株式会社総合研究所
内

⑩ 発明者 若林清重

東京都豊島区高田3丁目41番8
号中外製薬株式会社総合研究所
内

⑪ 出願人 中外製薬株式会社

東京都北区浮間5丁目5番1号

⑫ 代理人 安藤憲章

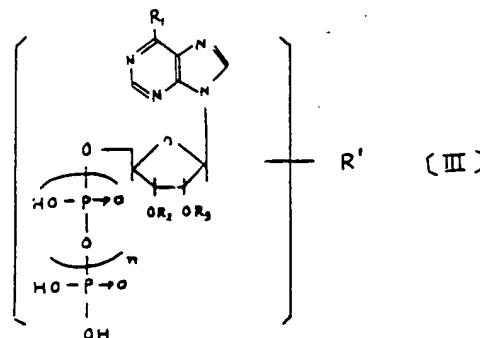
明細書

1. 発明の名称

ヨードの導入された新規アデノシン磷酸化合物及びその製法

2. 特許請求の範囲

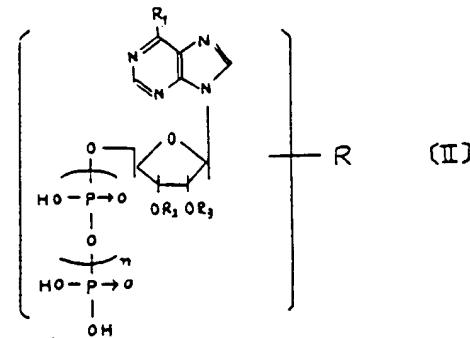
1) 一般式。



(式中、R'はアリン環の2位、6位若しくは8位に結合する -NH-CH₂-CH₂- 又は -NH-CH₂-CH₂- を示し (= = =)。I⁺の先頭はヨウ素が放射性同位元素で標識されていてもよいことを示す)。RはR'がアリン環の2位若しくは8位に結合するときはアミノ基を、6位に結合するときは何を本とす。Rと同じものにほり)。R₂及びR₃は水素若しくは磷酸基を、又は共同して ~P_nO_mを示し、nは0~2

すろときは何も示さず、R'と同じものにほり)、R₂及びR₃は水素若しくは磷酸基を、又は共同して ~P_nO_mを示し、nは0~2の整数を示す]で表わされるヨードの導入されたアデノシン磷酸化合物又はその塩。

2) 一般式。

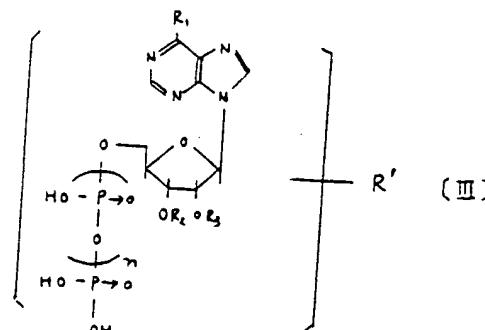


(式中、Rはアリン環の2位、6位若しくは8位に結合する -NH-CH₂-CH₂--OHを示し、R₂はRがアリン環の2位若しくは8位に結合するときはアミノ基を、6位に結合するときは何を本とす。Rと同じものにほり)。R₂及びR₃は水素若しくは磷酸基を、又は共同して ~P_nO_mを示し、nは0~2

の整数を表す)で表わすアデノシン磷酸化合物若しくはその塩に。

① 放射性ヨードで標識されたヨウ化アルカリの存在若しくは不存在下ヨウド-ヨウ化アルカリ水溶液を作用させる、
又は、

② 酸化剤の存在下放射性ヨードで標識され若しくはされていはずのヨウ化アルカリを作用させる
ことを特徴とする一般式。



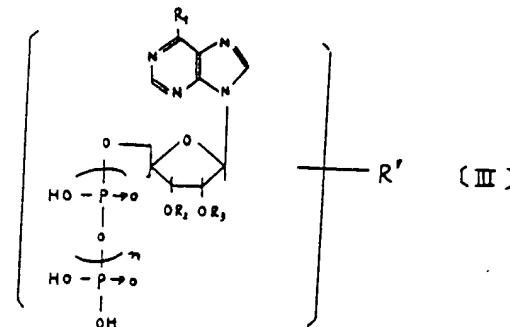
(式中、R'はフリン環の2位、6位若しくは8位に結合する-NH-CH₂-CH₂-I-OH又は

(3)

用化が期待されてゐる(特開昭53-41421号、特開昭54-17871号、特開昭54-160813号等)。

本発明は、AMP、ADP、ATP等ラジオイシックセイを行く際の放射性ヨード標識化合物として有用であり、また、上記B-プロテインアッセイに効果的に用いることの出来る放射性ヨード標識化合物若しくはその他の合成中間体として有用な物質及びその製造法を提供することを目的とする。

本発明によれば、本発明の目的化合物は一般式。



(式中、R'はフリン環の2位、6位若しくは8位に結合する-NH-CH₂-CH₂-I-OH又は

(5)

特開昭57-11900(2)
-NH-CH₂-CH₂-I-OHを示す(=エーテル、I⁺の＊印はヨードが放射性同位元素で標識されていてもよいことを示す)。R'はR'がフリン環の2位若しくは8位に結合するときはアミノ基を、6位に結合するときは何も示さずR'と同じものになり、R₂、R₃及びR₄は前記と同一のものを示す]で表わされる化合物の製法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、ヨードの導入された新規アデノシン磷酸化合物若しくはその塩及びその製法に関する。

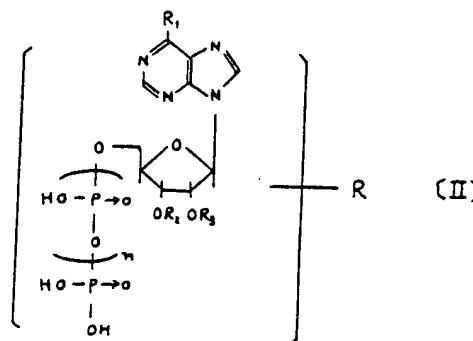
アデノシン磷酸化合物は、アデノシンモノフォスファート(AMP)、アデノシンジフォスファート(ADP)あるいはアデノントリフォスファート(ATP)の形で広く生体内に分布する物質であって、生体エネルギー代謝に関与するといふことが知られ、体液中の濃度を測定する必要性がある場合が多い。

また、近年では、ATP、コエンザイムA等にはこれらの類縁体を用いて癌の診断を行う方法(B-プロテインアッセイ)が見出され、その実

(4)

-NH-CH₂-CH₂-I-OHを示す(=エーテル、I⁺の＊印はヨードが放射性同位元素で標識されていてもよいことを示す)。R'はR'がフリン環の2位若しくは8位に結合するときはアミノ基を、6位に結合するときは何も示さず、R'と同じものになり、R₂及びR₃は水素若しくは磷酸基を、又は共通して-RGO₂を示し、nは0~2の整数を示す]で表わされる。

本発明の化合物は、一般式。



(式中、R'はフリン環の2位、6位若しくは8位に結合する-NH-CH₂-CH₂-I-OHを示す。R₁はRかフリン環の2位若しくは8位に結合するときはア

ミノ基を、6位に結合するときは何を示すかRと同じものになります。R₂、R₃及びnは前記と同一のものを示す)で表わされるアデノシン磷酸化合物若しくはその塩(化合物II)。

① 放射性ヨードで標識されたヨード化アルカリの存在若しくは不存在下にヨード-ヨ化アルカリ水溶液を作用せよ。

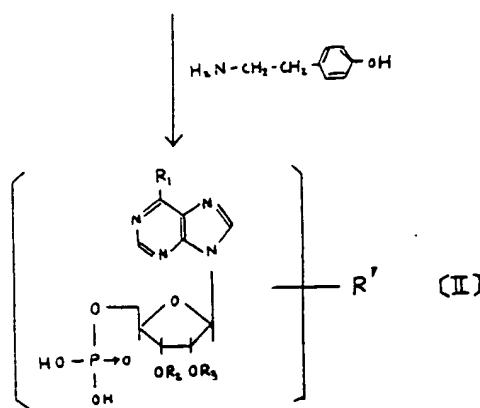
又は、

② 酸化剤の存在下放射性ヨードで標識されに若しくはされていないヨード化アルカリを作用せよ。

これにより得らることは出来る。

目的化合物のうち、放射性ヨードで標識されない化合物は放射性ヨードで標識された化合物キャリヤーとしての有用性があり、このものを得るには上記反応において放射性ヨードで標識したヨード化アルカリを一切用ひないで反応を行えば得らることが出来る。また、逆に放射性ヨードで標識した目的物を得るために、放射性ヨードで標識したヨード化アルカリの存在下にヨード-ヨ化

(7)

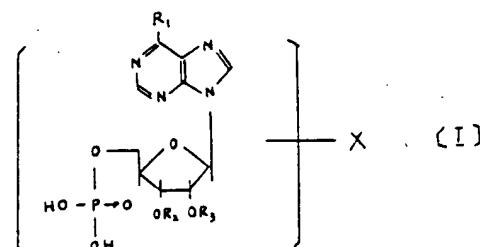


(上記反応式中、Xはアドン環の2位、6位若しくは8位に結合するハロゲン原子を示し、R₁はX又はR'がアドン環の2位若しくは8位に結合するときにはアミノ基を、6位に結合するときは何を示すか、R₂、R₃及びnは前記と同一のものを示す)の如き反応で得られ、また、化合物II(n=1又は2)は化合物II(n=0)に磷酸若しくはヒドロ磷酸を反応させることにより得らることは出来る。化合物IIは直離型のままで用いてもよいが、トリメチルアンモニウム塩、トリエチルアンモニウム

アルカリ水溶液を化合物IIに作用させか、又は放射性ヨードで標識したヨード化アルカリを化合物IIに作用させよ。

化合物IIはヨード-ヨ化アルカリを作用させると上記①の反応は、化合物IIを少量の弱酸性水溶液、たとえば重炭酸カリウム水溶液に溶解した後、0~30°Cにて搅拌下ヨード-ヨ化アルカリ水溶液を徐々に添加して行う。反応は、添加とともにほとんど瞬時に進行するが、更に好ましい結果を得るためには添加終了後10~20分間搅拌を継続した方が良い。

反応原料としての化合物IIは新規化合物であり、化合物II(n=0)は、



(8)

過量の強酸性塩の形で用いると好ましい。もう一方の反応原料であるヨード-ヨ化アルカリ水溶液としては、ヨードナトリウム、ヨードカリウム、ヨードリチウム等をヨードと共に少量のエタノールを含有する水に溶解したものである。

上記①の反応で放射性ヨードで標識した化合物を得るために、化合物IIにヨード-ヨ化アルカリ水溶液を作用せよ際に放射性ヨードで標識したヨード化アルカリを共存させて同反応を実施すればよし。放射性ヨードで標識したヨード化アルカリとしては、ヨードナトリウム、ヨードカリウム、ヨードリチウム等が用いられ、その使用量は極く少量です。より多くの標識ヨード化アルカリを用いればそれだけ比放射能の高い目的物が得られる。

本発明の目的化合物は、化合物IIに酸化剤の存在下放射性ヨードで標識され若しくはされていないヨード化アルカリを作用させても得られる(上記②の方法)。この方法について用いられる原料化合物II、放射性ヨードで標識したヨード化アルカリ

リ等は上記①の方法で用いたものと全く同一のものでよい。この④の方法は特に目的物として放射性ヨードで標識したものを得るために適した方法であり、反応は次の如くして行う。

すなわち、最初に化合物Ⅱを放射性ヨードで標識したヨード化アルカリとともに pH 7.0附近に調整した緩衝液に溶解し、次いで酸化剤を加え、反応させる。緩衝液としては磷酸緩衝液が、酸化剤としてはクロウミンTが好ましい。反応はクロウミンTの添加とともに瞬時に進行するので、反応開始後遅くとも 2 分後には反応を停止させることが肝要である。

上記①及び④の方法において、反応混液から目的物を分離するには、DEAE-セルロース、Q-AE-セルロース、ECTEOLA-セルロース、DEAE-セファデックス等の弱塩基性カチオン交換セルロース若しくはイオン交換セファデックスを用い、カラムクロマトグラフィーにより行う。溶出は、濃度勾配法により、溶出溶媒としてはアンモニアニアセテート、炭酸アンモニウム、富炭酸アンモニウム等を用いる。カラムクロマトグラフィーにおける目的物質の検査は、紫外外部吸収スペクトルと高速液体クロマトグラフィーにより行い、目的物質は、目的物質を含む混合の水を減圧下、溶媒を留去するとともにより、通常温^はかで得る。

特開昭57-11909 (4)
カラム等を用いる。カラムクロマトグラフィーにおける目的物質の検査は、紫外外部吸収スペクトルと高速液体クロマトグラフィーにより行い、目的物質は、目的物質を含む混合の水を減圧下、溶媒を留去するとともにより、通常温^はかで得る。

本発明の目的化合物うち、放射性ヨードで標識されてゐるものには、AMP、ADPあるいはATPのラジオイムニアセイの試薬として有用であり、化合物Ⅲ($n=2$)の放射性ヨード標識化合物は特開昭53-41421号のB-フロテインアッセイの試薬として有用である。更に、化合物Ⅲ($n=0$)の放射性ヨード標識化合物は4'-フオスフォリボンテインと反応させてコンザイムA化合物類^になることより特願昭54-17871号及び特願昭54-160813号のB-フロテインアッセイ用の試薬とすることが出来る。また更に、本発明の化合物で放射性ヨードを含まないものは上記放射性標識化合物のキャリアとして用いられる場合^{X線吸収作用を有する}それを自体が低毒性で強^{X線造影剤}としても用いられる。以下に本発明の実施例を示す。

(11)

実施例 1

a) 8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フосфат

8-ブロモアデノシン-5'-フосфートのアンモニウム塩 0.6g、4-ヒドロキシフェネチルアミン 1.4g、水 30 ml の混合物を攪拌下 140~150°C にて 2 時間加熱還流する。冷後、不溶物を沪過し沪液と DEAE-セルロース (HCO_3^- 型、 $2 \times 50 \text{ cm}$) に吸着。0.01M NH_4HCO_3 ~ 0.25M NH_4HCO_3 の濃度勾配法にて溶出する。目的物の検査は紫外外部吸収スペクトルと高速液体クロマトグラフィーで行ない、目的物を含有する部分について減圧下 30~35°C にて溶媒を留去する。水 5 ml で残留物を溶解し、トリエチルアミン 1 ml を加えて減圧下溶媒を留去する。然後、少量のエタノールを加えてエタノールを留去すれば、無色粉末状の 8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フосфート(トリエチルアンモニウム塩) 0.4 g を得る。

UV $\lambda_{max}^{H_2O}$: 278 nm

元素分析値: C₁₀H₁₈O₈N₂P·½H₂O として

	C	H	N
理論 値 (%)	48.64	6.63	16.55
実測 値 (%)	48.79	6.81	16.34

b) a) で得られた 8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フосфート(トリエチルアンモニウム塩) 100 mg を 0.25M 富炭酸カリウム溶液 1 ml に溶解し、ヨード-ヨード化カリウム水溶液 (KI 100 mg, I₂ 127 mg を 10% エタノール水溶液 10 ml に溶解したもの) 3.5 ml を氷冷攪拌下に滴下する。滴下終了後、さらに 10 分間攪拌し、反応混液に水 20 ml を加え DEAE-セルロース (HCO_3^- 型、 $1.2 \times 15 \text{ cm}$) に吸着させり。0.01~0.5M NH_4HCO_3 の濃度勾配法で溶出、紫外線吸収スペクトル及び高速液体クロマトグラフィー(カラム: リクロソルア RP-18, 濃度溶液: 1% テトラメチルアンモニウムフオスフェート: CH₃CN (8:2) ^(PH29)) で検査したから、8-(3-ヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フосфート(モノヨード体)を含有

(12)

(13)

(14)

すり玉分と、8-(3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフェート(ジヨード体)を含有すり玉分を得た。

大さの玉分を減圧下30~35°Cで溶媒を留去、残渣物に水を加えてNH₄HCO₃を留去する操作を繰り返し、エタノールを加えて^{エターナル}留去すれば淡黄色粉末状モノヨード体(アンモニウム塩)30mg及びジヨード体(アンモニウム塩)25mgを得た。

モノヨード体； UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$: 278 nm

元素分析値： C₁₈H₂₄N₇O₈P₁·H₂Oとして

C H N

理論値(%)	33.60	4.23	15.24
実測値(%)	33.72	4.15	15.13

ジヨード体； UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$: 280 nm

元素分析値： C₁₈H₂₄N₇O₈P₁·2H₂O

C H N

理論値(%)	27.46	3.58	12.45
実測値(%)	27.62	3.50	12.37

(15)

セ、DEAE-セルロース(HCO₃⁻型、1×10 cm)に吸着させ、次いで0.01~0.5M NH₄HCO₃の濃度勾配法で溶出し、ガンマーカウンターで検索して目的とする玉分を集め。この玉分について、減圧下溶媒を留去、濃縮し、[¹²⁵I]-8-(3-ヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフェート(アンモニウム塩)(160μCi)を得た。

本物質はセルロース薄層クロマトグラフィー(検出：ラジオクロマトスキャナー及び紫外線ランプ)で実施例1(b)で得られたモノヨード体と同一のR_f値を有することが確認され、更に同モノヨード体と混じた状態でDEAE-セルロース(HCO₃⁻型)を用いたカラムクロマトグラフィーを行ない、モノヨード体のフラクションに放射能を認めた。

実施例4

実施例1(a)で得られた8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフェート(トリエナルアンモニウム塩)150mg、重炭酸カリウム溶液300mgを水30mlに溶解し、室温で

マススペクトル(FDマススペクトル)：ペブレントピーク = 734 m/e

実施例2

実施例1(b)において、8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフェート(トリエナルアンモニウム塩)とヨードヨー化カリウム水溶液を反応させた際にNa¹²⁵[100μCi]を存在させて同様の実験を行ない、[¹²⁵I]-8-(3-ヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフェート(アンモニウム塩)30mg(10μCi)及び[¹²⁵I]-8-(3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフェート(アンモニウム塩)25mg(20μCi)を得た。

実施例3

実施例1(a)で得られた8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフェートのアンモニウム塩30μg、Na¹²⁵I 200μCiを0.5M 磷酸緩衝液(PH 7.0)に溶解し、クロラミント100μgを振盪下に加え、60秒後ソジウムメタビサルファイト200μgを加えて反応を停止す

(16)

攪拌下0.02Mヨードヨー化カリウム水溶液を反応混液が着色するまで滴下する(約20ml)。

滴下終了後さらに10分間攪拌し、反応混液に0.01M NaHSO₃水溶液を加えて過剰のI₂を分解する。反応混液を0.5N HCl水溶液でPH 2.7となり、活性炭1gを加えて15分間攪拌する。活性炭を沈取し、水100mlで洗浄した後濃NH₄OH:エタノール:H₂O(1:25:25)で溶出し、紫外線吸収スペクトルを用いて目的物を含有する玉分を集め。この玉分について減圧下溶媒を留去すると、淡黄色粉末を得るので、本粉末を水に溶解(DEAEセルロース(HCO₃⁻型、1.5×30cm)に吸着せしめ、次いで0.01~0.5M NH₄HCO₃の濃度勾配法で溶出し紫外線吸収スペクトルと高遠波体クロマトグラフィーで検索しながら目的物質を含有する玉分を集め。この玉分について減圧下溶媒を留去、数回水を加えてNH₄HCO₃を留去すると淡黄色粉末として8-(3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフェートのアンモニウム塩150mgを得た。

(17)

-751-

(18)

本物質は高速液体クロマトグラフィー上、
リクロソルアルコール、溶出溶液；0.1% テトラメチルアンモニウムフオスフェート (pH 2.9) : CH₃CN
(8:2) で実施例 1 b) で得られた 8-(3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)-5'-フオスフェートのアンモニウム塩と
同一のリテンションタイムを有することが確認された。

実施例 5

実施例 4において、8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)-5'-フオスフェートのトリエチルアン



(19)

b) 8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)-アデノシン-2',3'-サイクリップ-5'-ジフオスフェート(ビストリエチルアンモニウム塩) 30 μg, Na¹²⁵I 200 μCi
を用いて実施例 3 と同様に処理して [I¹²⁵] - 8-
ン-2',3'-サイクリップ-5'-ジフオスフェート
(ビストリエチルアンモニウム塩) (150 μCi)
を得た。

実施例 7

実施例 6 ②) と同様に処理して得た 8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)-アデノシン-2',3'-サイクリップ-5'-ジフオスフェート(ビストリエチルアンモニウム塩) 50 mg 及びヨード-ヨーヒカリウム
溶液 (KI 100 mg, I₂ 127 mg を 10% エタノール水溶液に溶解したも) 1.7 ml を用い実施例
1 b) と同様の処理をして、淡黄色粉末状の 8-
(3-ヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)-アデノシン-2',3'-サイクリップ-5'-ジフオスフェート
(ビストリエチルアンモニウム塩) [モノヨード体] 15 mg 及び淡黄色粉末状の 8-(3,5-ジヨード-



-752-

モノヨード体 150 mg のヨードヨーヒカリウム水溶液 1 ml を作用させた後に, Na¹²⁵I 100 μCi を加えしりて同実験を行ない、淡黄色粉末状の [I¹²⁵] - 8-(3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)-アデノシン-5'-フオスフェートのアンモニウム塩 (150 mg) を得た。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$: 280 nm.

2) 8-フロモアデノシン-2',3'-サイクリップ-5'-ジフオスフェート 100 mg, P-ヒドロキシフェネチルアミン 300 mg, 水 10 ml の混合物を実施例 1 と同様に処理して黒色粉末状の 8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)-アデノシン-2',3'-サイクリップ-5'-ジフオスフェート(ビストリエチルアンモニウム塩) 100 mg を得た。

紫外外部吸収 : UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ = 277 nm

元素分析値 : C₃₀H₅₂N₈O₁₀P₂ · 2H₂O として

	C	H	N
理論値 (%)	46.05	7.21	14.32
実測値 (%)	46.12	7.20	14.29



-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)-アデノシン-2',3'-サイクリップ-5'-ジフオスフェート(ビストリエチルアンモニウム塩) [ヨード体] 15 mg を得た。

モノヨード体

紫外外部吸収 : UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ = 278 nm

元素分析値 : C₃₀H₅₀N₈O₁₀P₂I · 2H₂O として

	C	H	N
理論値 (%)	39.65	6.10	12.33
実測値 (%)	39.52	6.21	12.28

ジヨード体

紫外外部吸収 : UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ = 280 nm

元素分析値 : C₃₀H₅₀N₈O₁₀P₂I₂ · 2H₂O として

	C	H	N
理論値 (%)	34.83	5.26	10.83
実測値 (%)	34.62	5.53	10.75

実施例 8

2) 6-クロロブリンリボシド-5'-モノフオスフェート(ナトリウム塩) 36.7 mg を水 5 ml に溶解し、4-ヒドロキシフェネチルアミン 274 mg を



IN HCl で pH 7.0 にして溶解した溶液 (5 ml) を加え、80 °C で 6 時間加熱、攪拌する。反応混合液を高速液体クロマトグラフィー (カラム: リクロソル RP-18, 浸出溶液: 1% テトラメチルアンモニウムフオストエート (pH 2.9); CH₃CN = 9 : 1) で確認する。

次に、反応混合物を DEAE-セルロース (HCO₃⁻ 型, 1.7 × 10 cm) に吸着。0.01 M NH₄HCO₃ ~ 0.2 M NH₄HCO₃ の濃度勾配法にて溶出する。

紫外部吸収スペクトル及び高速液体クロマトグラフィーで検索しながら、目的物画分を選び、減圧下 35 °C で濃縮して黒色粉末状の N⁶-(4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオストエート (アンモニウム塩) 12 mg を得た。

UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$: 268 nm

元素分析値: C₁₈H₂₅N₆O₈P · 2H₂O として

C	H	N
---	---	---

理論値(%) 41.54 5.62 16.15

実測値(%) 41.68 5.75 16.04



粉末状の N⁶-(3-ヨード-4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオストエート (アンモニウム塩) [ヨード体] 3 mg 及び淡黄色粉末状の N⁶-(3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオストエート (アンモニウム塩) [ジヨード体] 3 mg を得る。

モノヨード体:

紫外部吸収: UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ = 271 nm

元素分析値: C₁₈H₂₅N₆O₈P · 2H₂O として

C	H	N
---	---	---

理論値(%) 33.45 4.37 13.00

実測値(%) 33.52 4.45 12.92

ジヨード体:

紫外部吸収: UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ = 268 nm

元素分析値: C₁₈H₂₅N₆O₈P · 2H₂O として

C	H	N
---	---	---

理論値(%) 28.00 3.52 10.88

実測値(%) 28.12 3.58 10.77

b) 2) で得た N⁶-(4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオストエート 10 mg を 5 ml に溶解し、重炭酸カリウム水溶液 (50 mg/ml) を 1 ml 加え、氷冷下搅拌しながらヨード-ヨード化カリウム水溶液 (10% エタノール水溶液 10 ml に I₂ 127 mg と KI 100 mg を溶解したもの) 0.4 ml を滴下する。反応混合液について高速液体クロマトグラフィー (カラム: リクロソル RP-18, 浸出溶液: 0.1% トリメチルアンモニウムフオストエート (pH 2.9); CH₃CN (8:2) · pH 2.9) で目的物の生成を確認した後、DEAE-セルロースを用いたカラムクロマトグラフィー (HCO₃⁻ 型, 1.7 × 10 cm) に吸着させ。次いで 0.01 ~ 0.5 M NH₄HCO₃ の濃度勾配法にて目的物を溶出する。紫外部吸収スペクトルで検索しながら、目的画分として N⁶-(3-ヨード-4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオストエートの画分及び N⁶-(3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオストエートの画分を得。これらを夫々減圧下 35 °C にて濃縮して、淡黄色

実施例 9

実施例 8 2) で得られた N⁶-(4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオストエート 30 μg を 0.5 M 硼酸緩衝液 (pH 7.0) 50 μl に溶解し、NaI 0.6 μg 及び Na¹²⁵ [100 μCi] を添加し、7 口ラミント 100 μg を加え、1 分間反応後 Na₂S₂O₅ 200 μg を加える。反応混合液についてヨード標識化合物の生成をセルロース薄層クロマトグラフィー (展開溶媒; エタノール: 0.5 M 酢酸アンモニウム = 5:2) で確認した後、DEAE-セルロースを用いたカラムクロマトグラフィー (HCO₃⁻ 型, 1.7 × 10 cm) に吸着させ。次いで 0.01 ~ 0.5 M NH₄HCO₃ の濃度勾配法にて目的物を溶出する。この画分について、減圧下溶媒を留去し、淡黄色粉末状の [¹²⁵I]-N⁶-(3-ヨード-4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオストエート (ヨード-ヨード化アデノシン-5'-モノフオストエート) (70% 收率)

実施例 10

2) 8 (4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオストエート 50 mg



スフエート(アンモニウム塩)(モノヨード体)(30 μ Ci)及び[125 I]-N⁶-(3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェネチル)アデノシン-5'-モノフオスフエート(アンモニウム塩)(ジヨード体)(40 μ Ci)を得た。

実施例10

a) 8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフエート(アンモニウム塩)30mgを

(27)

水を留去する。残り物に水50mlを加え、反応溶液をDEAEセルロース(HCO₃⁻型、2×30cm)に吸着し、0~0.5M NH₄HCO₃の濃度勾配法で溶出し、紫外外部吸収スペクトラル及び高速液体クロマトグラフィーを用いて目的物を含有する画分を集め、減圧下30~35°Cで溶媒を留去して黒色粉末 λ UV $\lambda_{max}^{H_2O}$: 278 nm 8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-トリフオスフエート(アンモニウム塩)5.8mgを得た。UV $\lambda_{max}^{H_2O}$: 278 nm

b) 上記a)で得た8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-トリフオスフエート(アンモニウム塩)5.8mgを水5mlに溶解し、トリエチルアミン1mlを加えて減圧下、溶媒を留去する。8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-トリフオスフエートのトリエチルアンモニウム塩を得る。

8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)-アデノシン-5'-トリフオスフエートのトリエチルアンモニウム塩5mgを実施例1(b)と同様に操作すれば、淡黄色粉末状の8-(3-ヨード-4-ヒドロキシ

特開昭57-11999 (8)
水5mlに溶解し、トリブチルアミン9mgとニトリジン1mlに溶解したものと加え溶媒を留去する。この残り物について無水ピリジン5mlを加え、ピリジンを留去する操作を3回繰り返せば、8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフエートヘトリブチルアンモニウム塩が得られる。

8-(4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-フオスフエートのトリブチルアンモニウム塩26mgを無水ジメチルフルムアミド1mlに溶解し、1,1'-カルボニルジイミダゾール32.5mgを無水ジメチルフルムアミド1mlに溶解したものと加えて封管下、室温にて4時間放置、反応させろ。次いでメタノール2μlを加え30分間放置して過剰の1,1'-カルボニルジイミダゾールを分解する。然る後ピコリン酸のトリブチルアンモニウム塩10.9mgを無水ジメチルフルムアミド1mlに溶解したものを加え、防湿下室温にて20時間放置反応させろ。

次いでメタノール0.1mlを加え、30分間放置して反応を停止させ、減圧下30~35°Cにて溶

メチルアミノ)アデノシン-5'-トリフオスフエート(アンモニウム塩)[モノヨード体]2mg及⁽⁵⁾ u淡黄色粉末状の8-(3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェネチルアミノ)アデノシン-5'-トリフオスフエート(アンモニウム塩)[ジヨード体]2mgを得る。

モノヨード体

紫外外部吸収: UV $\lambda_{max}^{H_2O}$ = 278 nm

ジヨード体

紫外外部吸収: UV $\lambda_{max}^{H_2O}$ = 278 nm

出願人 紫外製薬株式会社

代理人 宇藤善幸